Aus der Dermatologischen Universitätsklinik Basel
Vorsteher: Prof. Dr. R. Schuppli

Untersuchungen über das experimentelle Kaninchenasthma

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von

Adolf Arnet
von Zell und Gettnau / LU

Leipzig 1963

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt
auf Antrag von Prof. Dr. R. Schuppli

Tag der Promotion: 1. März 1963

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

Sonderdruck aus Allergie und Asthma, Band 9, Heft 4/5, 1963

I. Einleitung

In der Literaturübersicht von *B. Ratner* „Experimental Asthma" wird praktisch nur das Asthma bronchiale des Meerschweinchens erwähnt. Nach dieser Arbeit gelang es *Friedberg* erstmalig im Jahre 1911 bei mit Pferdeserum sensibilisierten Meerschweinchen durch Antigeninhalation eine „anaphylaktische Pneumonie" zu erzeugen (1).

Seit dieser Zeit wurden die Methoden zur Erzeugung von Bronchialasthma und dessen Registrierung immer mehr verfeinert, und heute gilt das experimentelle Meerschweinchenasthma, sei es medikamentös oder allergisch ausgelöst, als das klassische Modell für die Testung antiasthmatischer oder antiallergischer Substanzen.

Es ist ein besonderes Verdienst von *B.* und *I. Noelpp-Eschenhagen*, durch eine synchrone Thorako-Abdomino-Motographie des wachen und freibeweglichen Tieres eine Methode zur Erzeugung des Asthma bronchiale entwickelt zu haben, die den Modellcharakter des Meeschweinchenasthmas für das menschliche Asthma bestätigt. Ferner gelang es ihnen sogar, die pathophysiologische Bedeutung bedingt reflektorischer Mechanismen beim Meerschweinchenasthma nachzuweisen (2). Über ähnliche Resultate berichtete drei Jahre später *H. Friebel*, dem es gelang, bei diesem Tier ein „nervöses" Asthma auszulösen (3).

In der Literaturübersicht von *B. Ratner* findet man nichts über das Asthma bronchiale beim Kaninchen. Er erwähnt dieses Tier nur einmal; dabei wurde von einem japanischen Autor versucht, durch intratracheales Einbringen des Antigens bei sensibilisierten Tieren anaphylaktische Zustände hervorzubringen.

M. Tai fand an Hand von Präzipitintiterbestimmungen, daß die Antigenresorption auf dem Respirationswege sehr langsam vor sich geht. Bei dem intratrachealen Einbringen von pulverisiertem Rinderserum konnte er schockartige Symptome erzeugen, „wobei der Blutdruck des Kaninchens genau durch Manometer angezeigt wurde". Über den Verlauf der Atmung wird bei diesen Experimenten nichts berichtet (4).

Wir wählten das Kaninchen als Versuchstier, obwohl bei ihm das „Schockorgan" nicht so genau definiert ist, da im anaphylaktischen Schock Bilder auftreten, die für einen Bronchospasmus sprechen, und da es sich wegen seiner Größe besser für die intravenöse Applikation verschiedener Medikamente eignet als das Meerschweinchen. Dabei interessierten uns folgende Fragestellungen:

1. Gelingt es beim Kaninchen Asthma zu erzeugen durch Inhalation pharmakologisch aktiver Substanzen, durch Antigeninhalation und wie verhält sich die Atmung bei der Antigenreinjektion?

2. Wie verhalten sich die Eosinophilen im Nasenabstrich bei der Antigeninhalation?

3. Lassen sich Kaninchen per inhalationem sensibilisieren?

4. Hat die ε-Aminokapronsäure eine Wirkung auf das experimentelle Kaninchenasthma?

II. Methodik zur Registrierung des Kaninchenasthmas

Analog zu *Reichel* (6) entwickelten wir für das Kaninchen eine Körperplethysmographie. Wir steckten das Versuchstier in ein luftdicht abgeschlossenes, zylinderförmiges Gehäuse, wobei nur der Kopf sichtbar ist. Um den Hals des Tieres wird eine doppelringige, aufblasbare Manschette gelegt, die einen luftdichten Abschluß von der Außenwelt gewährleistet.

Durch eine kleine Öffnung werden die durch die Atemexkursionen erzeugten Luftdruckschwankungen im Innern des Gehäuses durch einen Gummischlauch auf eine Mareysche Kapsel übertragen, welche an einen Tintendirektschreiber (Firma Jaquet, Basel) angeschlossen wird. Der Gummischlauch wird mit einem Quetschhahn versehen, um bei allzu kräftigen Atembewegungen die Impulse zu drosseln.

Die normale Kaninchenatmung unterliegt großen Schwankungen, ist aber bei den einzelnen Tieren ungefähr gleich, sofern bei ihnen nicht wiederholt starke Asthmaanfälle ausgelöst wurden. Bei diesen Tieren ist die Atemfrequenz oft spontan tiefer als bei den ersten Versuchen.

Normalerweise schwankt die Frequenz zwischen 180 und 240 pro Minute. Selten beobachteten wir jedoch Frequenzen bis zu 330/Min.

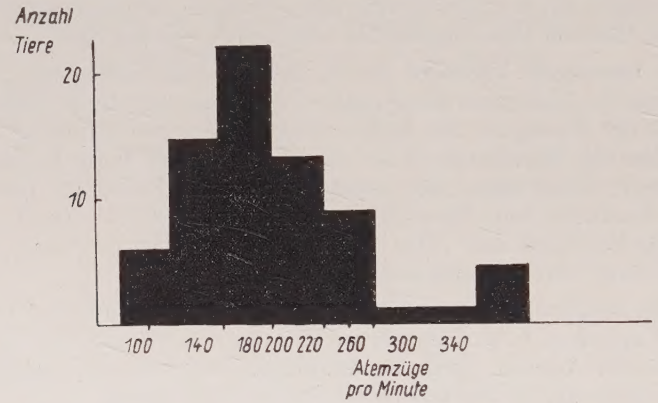

Abb. 1

Abbildung 1 gibt die Atmungsfrequenz bei 70 Versuchen (18 verschiedene Versuchstiere) wieder:

Wie bereits erwähnt, erfolgt die graphische Registrierung mit Hilfe einer Mareyschen Kapsel und einem Tintendirektschreiber. Die Kapsel registriert bei guter Einstellung die Druckschwankungen im Innern des Gehäuses, die synchron mit der Atemexkursion schwanken. Dabei resultieren für den jeweiligen Atmungszustand typische Kurven (vgl. Abb. 2):

a) Wenn die Tiere in das Gehäuse gesteckt werden, beobachtet man eine Ruheatmung mit 180 bis 240 Zügen pro Minute. Die Tiere verhalten sich ruhig, die Atmung scheint „reibungslos" abzulaufen.

b) Als leichtes Asthma bezeichnen wir einen dyspnoischen Zustand, wobei die Amplituden größer werden, die Frequenz leicht ansteigt und die Bauchatmung stärker hervortritt als in Ruhe.

c) Mittelschweres Asthma: Deutliche Abnahme der Atmungsfrequenz, etwa 100 Züge unter dem Ausgangswert. Die Bauchatmung ist auffallend verstärkt. Exspirium leicht verlängert.

d) Schweres Asthma: Die Atemfrequenz wird noch niedriger, meistens 40 bis 80 pro Minute. Es tritt Karcheln auf, Schleim fließt aus der Nase. Wird das Tier noch weiter dem asthmaauslösenden Aerosol ausgesetzt, so macht es Befreiungsversuche. Sehr selten Urin- und Kotabgang.

In den letzten beiden Stadien gelingt häufig der Nachweis von eosinophilen Leukozyten im Nasenabstrich, wenn das Asthma durch ein Inhalationsallergen ausgelöst wird.

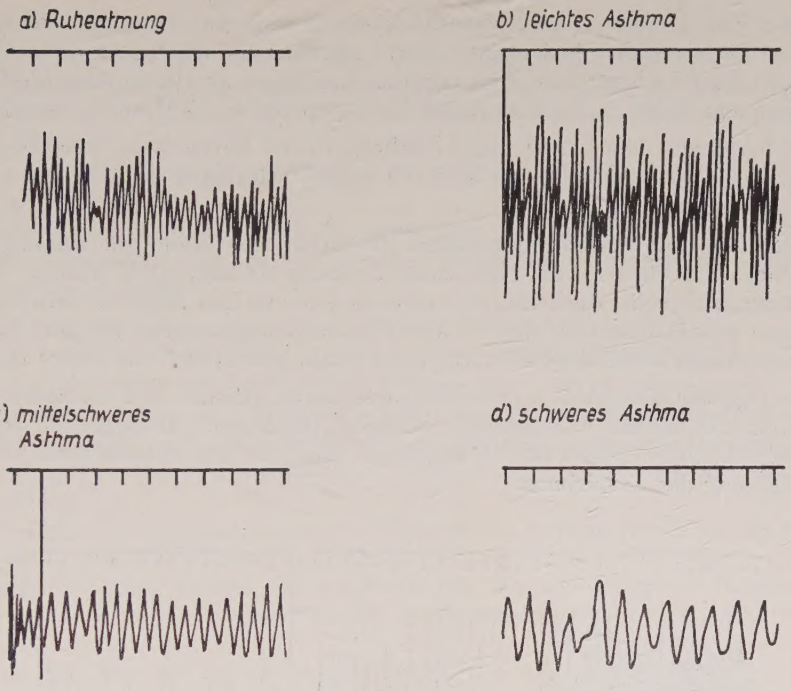

Abb. 2. Atemkurven in gedrosseltem System geschrieben.

Die Asthmaanfälle werden durch Inhalation eines asthmaauslösenden Medikaments oder Antigens erzeugt. Die Verneblung erfolgt mit Hilfe eines Pari-Apparates[1]). Vom Vernebler führt ein etwa 40 Zentimeter langer Schlauch in ein Plastikzelt, das über dem Kopf des Kaninchens aufgeschlagen wird. Die Größe der so erzeugten Tröpfchen beträgt nach Angaben des Herstellers 0,5 bis 5 μ.

Die Tiefe des Asthmaanfalles erkennt man daran, daß das Kaninchen auf äußere Reize (Lärm, Kneifen ins Ohr, Einstich mit der Injektionsnadel) nicht mehr mit einer Frequenzänderung, d. h. Anstieg der Atemfrequenz, zu antworten vermag, wie das sonst unter normalen Bedingungen geschieht.

Eine Änderung der Atmung wurde erst dann als positiv gewertet, wenn sich die Frequenz mindestens um 50 bis 100 Züge pro Minute änderte.

Für unsere Versuche wählten wir männliche und weibliche Kaninchen, deren Gewicht zwischen 2800 und 4100 Gramm lag.

Eine erste Gruppe von zehn Kaninchen wurde mit Pferdeserum, Eiklar oder doppelt mit Pferdeserum und Eiklar sensibilisiert (zweimal je 2 ml Pferdeserum und 2 ml 10 % Eiklar s. c., Intervall 48 Stunden). Zwei weitere Kaninchen wurden mehrmals subkutan mit Heudebert-Pollen in Honig sensibilisiert.

Eine weitere Gruppe von vier nichtsensibilisierten Kaninchen suchten wir per inhalationem zu sensibilisieren. Sie wurden in zeitlich verschiedenen Abständen während dreißig Minuten einem Pferdeserumspray ausgesetzt.

Für die Versuche mit Azetylcholin, Serotonin und Histamin verwendeten wir teils sensibilisierte, teils unvorbehandelte Tiere.

III. Resultate und Diskussion

a) Erzeugung von Asthma durch Inhalation pharmakodynamischer Substanzen

Mit Azetylcholinchlorid (50–100 mg gelöst in 1 ml Wasser) gelingt es, beim Kaninchen regelmäßig Asthmaanfälle auszulösen. Bei dieser hohen Konzentration

[1]) Hersteller: Paul Ritzau, Pari-Werke, Starnberg am See (Obb.).

tritt der Anfall meistens nach 30–90 Sekunden auf. Auf Histamin (50 mg/ml) sprechen die Kaninchen bedeutend weniger rasch an als auf Azetylcholin. Die mit Histamin einmal eingetretene Wirkung hält aber länger an als bei Azetylcholin, die Atemfrequenz bleibt nach Absetzen des Sprays oft bis zu 30 Minuten erniedrigt.

Mit Serotonin, dem ja auch eine bronchospastische Wirkung zugeschrieben wird, gelingt es mit einem Inhalat von 5 bis 10 mg/ml nicht, einen eindeutigen Asthmaanfall auszulösen.

Inhalation von ε-Aminokapronsäure (5–40%) beeinflußt die Atmung nicht wesentlich. Man sieht sowohl eine leichte Senkung als auch einen leichten Anstieg der Atmungsfrequenz. Auch auf intravenöse Injektion dieser Substanz verhalten sich die Tiere verschieden, wir haben sowohl Frequenzsteigerungen, als auch vorübergehenden Abfall beobachtet. Die Symptome waren jeweils nur von kurzer Dauer.

Das folgende Bild (Abb. 3) zeigt das plethysmographische Bild bei Azetylcholininhalation 50 mg/ml. Aufsteigender Schenkel Inspiration, absteigender Schenkel Exspiration. Man beachtet bei c) die starke Abnahme der Atemfrequenz und die Verlängerung des Exspiriums.

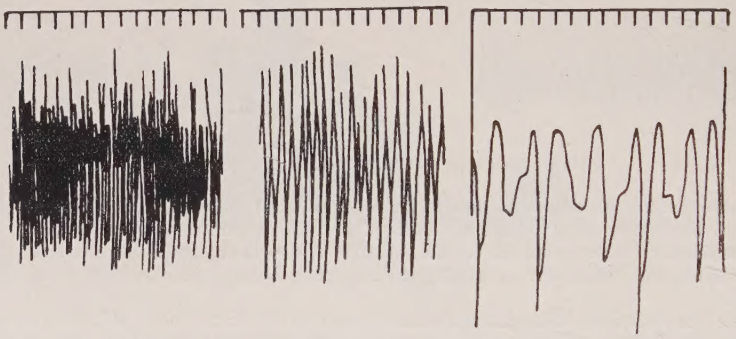

Abb. 3

a) vor Azetylcholininhalation Frequenz 205 min

b) 30″ nach Azetylcholininhalation Frequenz 95/min

c) nach 90″ Inhalation Exspirium verlängert Frequenz 36/min

b) Verhalten der Atmung bei Antigeninjektion

In vierzehn Versuchen wurde das entsprechende Antigen bei fünf verschiedenen Kaninchen intravenös injiziert. Von diesen fünf Tieren war eins nur mit Pferdeserum allein, die übrigen mit Pferdeserum und Eiklar doppelt sensibilisiert. Wurde ein Versuchstier mehrmals verwendet, so warteten wir im allgemeinen von einem Expositionsversuch bis zum anderen mindestens vierzehn Tage.

Bei diesen vierzehn Versuchen konnten wir achtmal eine vorübergehende, starke Änderung der Atmung feststellen: viermal stieg die Atmung nach einer kurzdauernden Apnoe wieder auf den Ausgangswert an; viermal erfolgte ein sofortiger Anstieg der Frequenz um 120 bis 180 Züge pro Minute; fünfmal beobachteten wir keine Änderung der Atmung. Sowohl die Frequenz, wie auch das plethysmographische Kurvenbild blieb gleich; ein Kaninchen reagierte mit einem Asthmaanfall auf die Pferdeseruminjektion. Dieses Tier war aber vorher einem einstündigen Pferdeserumspray ohne Erfolg ausgesetzt gewesen.

c) Verhalten der Atmung sensibilisierter Tiere bei der Antigeninhalation

Frühestens vierzehn Tage nach der Sensibilisierung wurden die Kaninchen dem entsprechenden Antigenaerosol ausgesetzt. Expositionsdauer mindestens etwa 30 bis 45 Minuten.

Von neun Tieren reagierten vier mit mittelschwerem Asthma, zwei mit leichtem Asthma; drei reagierten nicht.

Häufig beobachteten wir dünn- bis zähflüssige Schleimbildung nach der Inhalation. Dies veranlaßte uns am Schluß dieser Versuchsserie, im Nasenabstrich nach Eosinophilen zu suchen.

d) Verhalten der Eosinophilen im Nasenabstrich bei der Antigeninhalation bei sensibilisierten und nichtsensibilisierten Tieren

Bei zwanzig Inhalationsversuchen mit elf verschiedenen Kaninchen suchten wir nach Eosinophilen im Nasenabstrich. Vor der Inhalation ist es schwierig, genügend Schleim für eine sichere Beurteilung zu erhalten, was jedoch nach der Inhalation leicht gelingt.

Von diesen elf Tieren waren vier mit Pferdeserum, zwei mehrmals mit Heudebert-Pollenhonig s.c. sensibilisiert, fünf waren nicht sensibilisiert. Alle nicht mit Pollen sensibilisierten Tiere wurden einem etwa dreißig Minuten dauernden Pferdeserumspray ausgesetzt, die „Pollenkaninchen" einem Heudebertpollenspray (0,5 Heudebertpollen ad 1,5 Aqua dest.).

Nach der ersten Inhalation ergab sich folgendes Bild:

Sensibilisiert mit	Pferdeserum (4)	viermal Eosinophile im Nasenabstrich
	Pollen (2)	einmal Eosinophile im Nasenabstrich
	nicht sensibilisiert (5)	einmal Eosinophile im Nasenabstrich

e) Versuche, Kaninchen per inhalationem zu sensibilisieren

Von zwei Kaninchen, bei denen wir nach wiederholter Pferdeseruminhalation eosinophile Leukozyten im Nasenabstrich finden konnten, verhielt sich das eine Tier wie folgt:

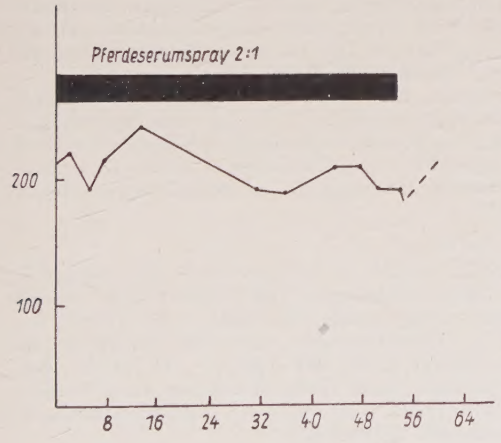

Abb. 4. Verlauf der Atmung während der 1. Exposition, Frequenz 190–240.

Es wurde am 1., 4., 6., 7., 11. und 65 Tage einem Pferdeserumspray ausgesetzt. Expositionsdauer jeweils eine halbe Stunde, das erste Mal eine Stunde (Abb. 4).

Bei der dritten und vierten Exposition erfolgte nur eine geringe Senkung der Atmungsfrequenz.

Am elften Tage trat nach einer 24 Minuten dauernden Exposition eine starke Depression der Atmung auf; Schleimaustritt aus der Nase, im Abstrich fanden sich viele eosinophile Zellen (Abb. 5).

Unter Neo-Epinine (Spray mit 1% Isoprenalinsulfat) erfolgte ein leichter Anstieg der Atmungsfrequenz, nach dessen Absetzen sank die Atmung unter 40 Atemzüge

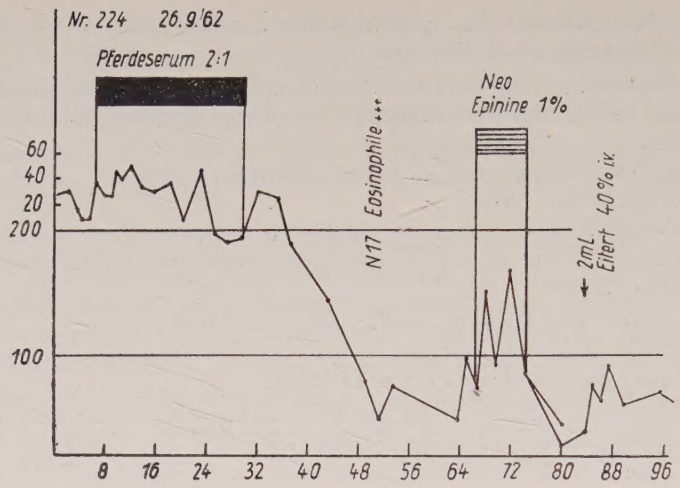

Abb. 5. Asthmaanfall nach 24 Minuten Pferdeseruminhalation (Verd. 2 : 1). Im Nasenabstrich Eosinophile +++

pro Minute. 2 ml ε-Aminokapronsäure vermochte diesen Zustand nicht wesentlich zu beeinflussen. Am siebzehnten Tage wurde dieses Tier während einer halben Stunde einem Menschenserumspray ausgesetzt. Während der Exposition wechselte die Atemfrequenz stark, jedoch trat kein Asthmaanfall auf.

Unsere Untersuchungen entsprechen der Erfahrung, daß Kaninchen schwer zu sensibilisieren sind. Nach *R. Doerr* kann man sich, soweit die aktive Präparierung in Betracht kommt, keinen größeren Gegensatz denken, als er im Verhalten der Kaninchen und Meerschweinchen zutage tritt (5). Nach optimaler Vorbehandlung zeigen nur 78% aller Tiere Symptome verschiedener Intensität und 22% reagieren überhaupt nicht. Immerhin erscheint es bemerkenswert, daß sensibilisierte Kaninchen bei Inhalation des homologen Antigens Asthma mit erhöhter Eosinophilenzahl im Nasenabstrich zeigen und daß sie sich per inhalationem sensibilisieren lassen.

Zusammenfassung: Es wird über eine Methode zur Erzeugung und Registrierung von Asthma bronchiale beim Kaninchen berichtet. An Hand der eosinophilen Leukozyten im Nasenabstrich wird gezeigt, daß bei entsprechender Versuchsbedingung am Respirationstrakt allergische Reaktionen ausgelöst werden können, und daß es bei wiederholter Antigeninhalation gelingt, Asthma oder zumindestens asthmoide Zustände zu erzeugen. Dies ist um so beachtenswerter, als im anaphylaktischen Schock die Lunge, d. h. die Bronchialmuskulatur, nicht mitreagiert.

Summary: A method of producing and recording bronchial asthma in rabbits is described. By using the presence of eosinophile leucocytes in the nasal smear, it was shown that allergic reactions could be incited in the respiratory tract under a corresponding experimental condition and that with repeated antigen-inhalation, it was possible to produce asthma or at least an asthma-like condition. This observation is noteworthy because the lungs, i. e. the bronchial musculature do not partake in anaphylactic shock of rabbits.

Literatur

(1) *Ratner, B.:* Experimental Asthma (Critical Analyis of the Literature) Ann. Allergy **9**, 677–694 (1951). – (2) *Noelpp, B.*, und *I. Noelpp-Eschenhagen:* Das experimentelle Asthma bronchiale des Meerschweinchens. Internat. Arch. Allergy **2**, 308–329 (1951). – (3) *Friebel, H.:* Über das experimentelle allergische Asthma der Meerschweinchen und seine Beziehung zum Asthma bronchiale des Menschen. Intern. Arch. Allergy **5**, 377–395 (1954). – (4) *Tai, M.:* Beitrag zur experimentellen Anaphylaxie bei Kaninchen durch Antigeninhalation statt Antigenreinjektion. Okayama-igakkai zasshi **51**, 2495–2496 (1939). – (5) *Doerr, R.:* Immunitätsforschung, Band VI: Die Anaphylaxie. Wien, 1950. – (6) *Reichel:* zit. nach (2).

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546021_0079